

ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

К. Ш. Мухитдинова¹, А. С. Резванов², А. А. Жураева¹, В. Н. Абдуллабекова¹

ИДЕНТИФИКАЦИЯ КОМПОНЕНТНОГО СОСТАВА ЛЕТУЧИХ ВЕЩЕСТВ УРОСЕПТИЧЕСКОГО ФИТОПРЕПАРАТА

¹Ташкентский фармацевтический институт, г. Ташкент, Республика Узбекистан

²Узбекский химико-фармацевтический научно-исследовательский институт
им. А. Султанова, г. Ташкент, Республика Узбекистан

Целью настоящей работы было изучение химического состава суммы легколетучих соединений лекарственного средства, разрабатываемого для профилактики и лечения заболеваний мочевыводящих органов, в состав которого входят трава крапивы двудомной, трава мяты перечной, кукурузные столбики с рыльцами, трава череды трёхраздельной, цветки календулы лекарственной, корни с корневищами солодки голой. Исследование проведено с использованием метода газо-хроматомасс-спектрометрии. В полученном жидком экстракте обнаружено и идентифицировано более 30 веществ, среди которых наиболее перспективными являются камфора, карвакрол, сорбитол, изовэгонол, азарон, каратол и др.

Ключевые слова: жидкий экстракт, газо-хроматомасс-спектрометрия, летучие вещества.

ВВЕДЕНИЕ

Одним из путей обеспечения здравоохранения качественными и экономически доступными лекарственными средствами является дальнейшее расширение научных исследований по изысканию и внедрению в медицинскую практику препаратов растительного происхождения. Разработка эффективных, безопасных, экономически доступных и удобных для применения фитопрепаратов на основе известного лекарственного растительного сырья, содержащего комплекс биологически активных веществ, действие и состав которого частично изучены, позволит рационально использовать лекарственные растения для профилактики и лечения различных заболеваний, в том числе широко распространенных заболеваний урологического характера.

Разработка экстракционных фитопрепаратов позволяет повысить выход биологически активных веществ (БАВ) из сырья и соответственно увеличить их процентную концентрацию в готовом препарате. При этом также наблюдается повышение терапевтического эффекта за счет точности дозирования, обеспечивается удобство применения и хранения.

Нами разработан фитопрепарат на основе местного сырья, представляющий собой жидкий экстракт из травы крапивы двудом-

ной, оказывающей противовоспалительное действие [1–3]; травы мяты перечной, оказывающей болеутоляющее, антисептическое, спазмолитическое, антибактериальное, мочегонное и противовоспалительное действие [4–6]; кукурузных столбиков с рыльцами, проявляющих диуретический эффект [7]; травы череды трёхраздельной, оказывающей мочегонное, улучшающее обмен веществ, бактерицидное и противовоспалительное действие [8, 9]; цветков календулы лекарственной, проявляющей антисептический, противовоспалительный, бактерицидный и спазмолитический эффекты [10–13]; а также корней с корневищами солодки голой, которая оказывает противовоспалительное [14–16], мочегонное [17], спазмолитическое, противомикробное действие [18–20]. При разработке данного фитопрепарата выбор лекарственного растительного сырья для включения в его состав был осуществлен с участием специалистов-фармакологов и на основании литературных данных.

Целью настоящей работы явилось изучение химического состава суммы легколетучих соединений разрабатываемого многокомпонентного лекарственного средства для профилактики и лечения заболеваний мочевыводящих органов из лекарственного растительного сырья, разрешенного для применения в медицинской практике на территории Республики Узбекистан.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования послужил жидкий экстракт, полученный методом перколяции из местного растительного сырья: травы крапивы двудомной, травы мяты перечной, кукурузных столбиков с рыльцами, травы череды трёхраздельной, цветков календулы лекарственной и корней с корневищами солодки голой (2:1:2:1:1:1). В качестве метода исследования использована хромато-масс-спектрометрия.

Анализ проводился на хромато-масс-спектрометре фирмы «AgilentTechnology» GC 6890 / MS 5973N с применением капиллярной колонки. Условия анализа: размер колонки – 30 м x 0,25 мм с 5 % фенилметилсилоксана в диметилсилоксане; температура инжектора – 280 °C, при программировании температура термостата колонок – от 100 до 280 °C, скорость подъема температуры – 10 °/мин, количество пробы – 1 мкл.

Идентификацию полученных веществ в исследуемом образце проводили с помощью программной библиотеки Willey-275.1 по масс-спектрам и временам удерживания.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты проведенных исследований по изучению летучих веществ жидкого экстракта представлены на рисунке и в таблице.

В результате проведенных исследований по изучению химического состава летучих веществ полученного экстракта выявлено более 30 веществ (таблица).

С фармакологической точки зрения, наиболее перспективными из них являются: камфора – усиливает сердечную деятельность, возбуждает центральную нервную систему, стимулирует дыхание и кровообращение; карвакрол – проявляет ярко выраженные антибиотическое, противогрибковое и антисептическое свойства; сорбитол – оказывает слабительное, спазмолитическое действие; азарон – проявляет противогрибковую, противозлептическую (*in vivo*) активность; каратол – проявляет ранозаживляющую, противовоспалительную активность. Совокупность выявленных веществ обладает противовоспалительным действием. Производные фенола, сесквитерпеновые производные и альдегиды оказывают односторонний противомикробный эффект как на различные патогенные бактерии, так и на грибки, снимая одну из основных причин появления и развития воспалительных заболеваний мочеполовой системы. Анальгезирующая активность соединений также благотворно влияет на общий процесс терапии. Практически все выявленные вещества являются ароматными. Большая часть из них не исследована до конца с фармакологической точки зрения, поскольку содержится в растениях в ничтожном для анализа количестве.

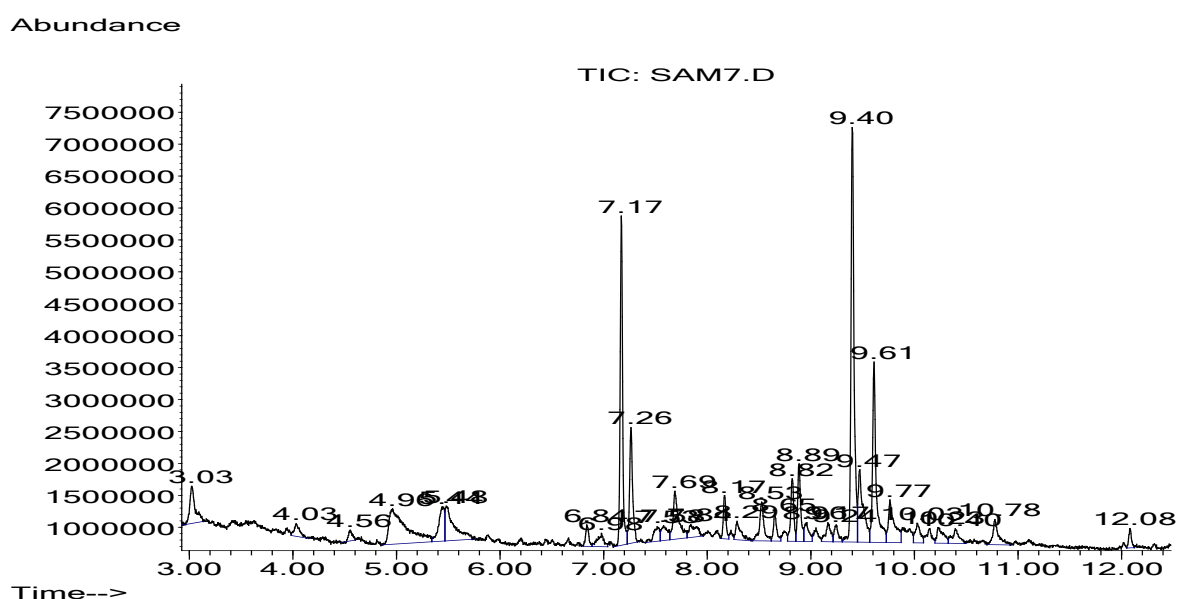


Рисунок. – Хроматограмма жидкого экстракта

Кроме того, выявленные ароматные вещества, вероятно, служат растениям для привлечения потенциальных опылителей и не несут каких-либо защитных функций, как, например, карвакрол или камфора.

Проведенный анализ выявил многокомпонентность химического состава летучих веществ лекарственных растений, которая предполагает широту использования и эффективность исследуемого препарата.

Таблица. – Компонентный состав летучих веществ исследуемого жидкого экстракта

№	Время удерживания, мин	Наименование вещества
1	3,03	Камфора
2	4,04	Карвакрол
3	4,56	Изоэвгенол
4	4,96	Валериановая кислота
5	5,44	Сорбитол
6	5,48	Этилфторацетат
7	6,84	α -копаэн-15-ол
8	6,98	Малоновая кислота
9	7,17	Азарон
10	7,26	Каротол
11	7,53	Ацетасол
12	7,58	β -D-Глюкопираноз
13	7,69	1Н-3а,6-Эпоксизулен-7-ол
14	7,84	(Э)-Азарон
15	8,17	Акоренон
16	8,29	Этиловый эфир 2-оксопропановой кислоты
17	8,53	Метил-2,2-дихло-2-фенилацетат
18	8,65	Аминосалициловая кислота
19	8,82	Изокаламендиол
20	8,89	Транс каламенен
21	8,96	Валеренал
22	9,24	Цис-Z- α -Бисаболен эпоксид
23	9,40	1-Оксаспиро [2.5]октан, 2,4,4-триметил-8-метилен
24	9,47	γ -Бицикломофарнезал
25	9,61	2-(1-Гидроксипропан-2-илиден) циклогексанон
26	9,77	Джасмон
27	10,03	7. β -Этил-8. β -гидрокси-2,6-диметилбицикло[4.4.0]дек-1-ен
28	10,23	N-Карбетокси-N-метоксиметиламин
29	10,40	Этиловый эфир 2-хлороацетилловой кислоты
30	10,78	Гексадецилен
31	12,08	Метил (6E,9E)-6,9-октадекадиенот

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При исследовании химического состава суммы летучих веществ жидкого экстракта, полученного из травы крапивы двудомной, травы мяты перечной, кукурузных столбиков с рыльцами, травы череды трёхраздельной, цветков календулы лекарственной, корней с корневищами солодки голой, методом газо-хроматомасс-спектрометрии обнаружено и идентифицировано более 30 компонентов, 19 из них обладает научно доказанным фармакологическим

эффектом. Обнаруженные вещества присутствуют в экстракте в следовом количестве и ранее не исследованы в плане биологического воздействия на организм.

Как показывает проведённый анализ, разработанный препарат для лечения воспалительных заболеваний мочеполовой системы содержит в своём составе богатый комплекс БАВ, что позволяет ему эффективно противодействовать причинам, обуславливающим появление, развитие и течение воспалительных процессов в мочеполовой системе.

Разработанная технология изготовления экстракта позволила экстрагировать наиболее фармакологически активные вещества из растительного сырья.

SUMMARY

K. Sh. Muhitdinova, A. S. Rezvanov,
A. A. Juraeva, V. N. Abdullabekova
IDENTIFICATION OF THE COMPO-
NENT COMPOSITION OF VOLATILE
SUBSTANCES OF UROSEPTIC HERBAL
REMEDY

The aim of the paper was to study chemical composition of the total volatile substances of the remedy developed for the prevention and treatment of the urinary organs diseases including the herbs of *Urtica dioica*, peppermint, corn silks, the herb of bur beggarticks, the flowers of *Calendula officinalis*, the roots and rhizomes of Spanish licorice in its composition. The study is conducted using the method of gas-chromatography / mass spectrometry. The composition of the liquid extract revealed and identified more than 30 substances, the most perspective being camphor, carvacrol, sorbitol, isoevginol, azorone, carotol, etc.

Keywords: liquid extract, gas chromatography / mass spectrometry, volatile substances.

ЛИТЕРАТУРА

1. Efficacy and safety of a combination of Sabal and *Urtica* extract in lower urinary tract symptoms-long-term follow-up of a placebo-controlled, double-blind, multicenter trial / N. Lopatkin [et al.] // *Int. Urol. Nephrol.* – 2007. – № 39 (4). – P. 1137–1146.
2. Protective effect of *Urtica dioica* L. on renal ischemia/reperfusion injury in rat / M. B. Sayhan [et al.] // *J. Mol. Histol.* – 2012. – № 43 (6). – P. 691–698.
3. Lipophilic stinging nettle extracts possess potent anti-inflammatory activity, are not cytotoxic and may be superior to traditional tinctures for treating inflammatory disorders / T. A. Johnson [et al.] // *Phytomedicine.* – 2013. – № 15;20(2). – P. 143–147.
4. Chemical Composition, Antifungal and Antibiofilm Activities of the Essential Oil of *Mentha piperita* L. / M. J. Saharkhiz [et al.] // *ISRN Pharm.* – 2012; 2012:718645.
5. Alves, J. G. Effectiveness of *Mentha piperita* in the Treatment of Infantile Colic: A Crossover Study / J. G. Alves, C. de Brito Rde, T. S. Cavalcanti // *Evid Based Complement Alternat. Med.* – 2012; 2012:981352.
6. Taher, Y. A. Antinociceptive activity of *Mentha piperita* leaf aqueous extract in mice / Y. A. Taher // *Libyan J. Med.* – 2012; № 7. doi: 10.3402/ljm.v7i0.16205.
7. Diuretic activity of *Maydis stigma* extract in rats / Z. Maksimović [et al.] // *Pharmazie.* – 2004. – № 59 (12). – P. 967–971.
8. Composition of the essential oil of *Bidens tripartita* L. roots and its antibacterial and antifungal activities / M. Tomczykowa [et al.] // *J. Med. Food.* – 2011. – № 14 (4). – P. 428–433.
9. Anti-inflammatory activity of a HPLC-fingerprinted aqueous infusion of aerial part of *Bidens tripartita* L / O. N. Pozharitskaya [et al.] // *Phytomedicine.* – 2010. – № 17 (6). – P. 463–468.
10. Preethi, K.C. Hepato and reno protective action of *Calendula officinalis* L. flower extract / K. C. Preethi, R. Kuttan // *Indian J. Exp. Biol.* – 2009. – № 47 (3). – P. 163–168.
11. Shipochliev, T. Anti-inflammatory action of a group of plant extracts / T. Shipochliev, A. Dimitrov, E. Aleksandrova // *Vet. Med. Nauki.* – 1981. – № 18 (6). – P. 87–94.
12. The role of triterpenoids in the topical anti-inflammatory activity of *Calendula officinalis* flowers / R. Della Loggia [et al.] // *Planta Med.* – 1994. – № 60 (6). – P. 516–520.
13. Triterpene alcohols from the flowers of *compositae* and their anti-inflammatory effects / T. Akihisa [et al.] // *Phytochemistry.* – 1996. – № 43 (6). – P. 1255–1260.
14. Glycyrrhizin reduces secondary inflammatory process after spinal cord compression injury in mice / T. Genovese [et al.] // *Shock.* – 2009. – № 31 (4). – P. 367–375.
15. Anti-ulcer and antioxidant activity of GutGard / M. Mukherjee [et al.] // *Indian J. Exp. Biol.* – 2010. – № 48 (3). – P. 269–274.
16. Licochalcone a inhibits lipopolysaccharide-induced inflammatory response in vitro and in vivo / X. Chu [et al.] // *J. Agric. Food Chem.* – 2012. – № 60 (15). – P. 3947–3954.
17. Preliminary evaluation of antinephritis and radical scavenging activities of glabridin from *Glycyrrhiza glabra* / T. Fukai [et al.] // *Fitoterapia.* – 2003. – № 74 (7-8). – P. 624–629.
18. Fukai, T. Antimicrobial activity of licorice flavonoids against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* / T. Fukai, A. Marumo, K. Kaitou // *Fitoterapia.* – 2002. – № 73

(6). – P. 536–539.

19. Antimicrobial potential of Glycyrrhiza glabra roots / V. K. Gupta [et al.] // J. Ethnopharmacol. – 2008. – № 116 (2). – P. 377–380.

20. Antifungal activity of Glycyrrhiza glabra extracts and its active constituent glabridin / A. Fatima [et al.] // Phytother Res. – 2009. – № 23 (8). – P. 1190–1193.

Адрес для корреспонденции:

100015, Республика Узбекистан,
г. Ташкент, Мирабадский район, пр. Ойбека 45,
Ташкентский фармацевтический институт,
кафедра фармацевтической химии,
e-mail: kamila-muhitdinova@mail.ru,
Мухитдинова К.Ш.

Поступила 22.02.2019 г.

М. В. Яцко, В. И. Фадеев, М. Л. Пивовар

**ВАЛИДАЦИЯ МЕТОДИКИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СИЛДЕНАФИЛА ЦИТРАТА
В ПЛАЗМЕ КРОВИ КРОЛИКОВ**

**Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет,
г. Витебск, Республика Беларусь**

Целью настоящей работы являлась валидация простой и доступной методики количественного определения силденафила цитрата в плазме крови кроликов. В качестве внутреннего стандарта в методике использован пропилпарабен, определены оптимальные условия хроматографического определения силденафила цитрата. Разработанная методика пробоподготовки включает экстракцию аналита и внутреннего стандарта этилацетатом, упаривание экстракта в токе азота и перерастворение веществ в подвижной фазе. Хроматографический анализ полученных проб осуществляли на жидкостном хроматографе Agilent 1100. В качестве хроматографической колонки использовали ZORBAX SB-C18 (4,5 × 150 мм, 5 мкм), подвижная фаза ацетонитрил-фосфатный буферный раствор (55:45, об/об). Разработанная методика валидирована по следующим показателям: специфичность, линейность, прецизионность, правильность, робастность (устойчивость стандартных растворов и стабильность образцов в условиях трехкратной разморозки-заморозки), диапазон применения.

Ключевые слова: силденафил, плазма, кровь, доклинические испытания, жидкость-жидкостная экстракция, высокоэффективная жидкостная хроматография.

ВВЕДЕНИЕ

Силденафил (1-[[3-(6,7-Дигидро-1-метил-7-оксо-3-пропил-1Н-пиразоло[4,3-альфа]пиримидин-5-ил)-4-этоксифенил]сульфонил]пиперазина цитрат) – селективный ингибитор цГМФ-специфической фосфодиэстеразы типа 5, которая ответственна за распад цГМФ в пещеристом теле [1].

Существует большое количество методик определения данного вещества. Например, в статье [2] анализ плазмы крови проводили методом ВЭЖХ на хроматографе Shimadzu LC-10AD со спектрофотометрическим детектированием при 230 нм с использованием колонки Kromasil C4 (4,6 × 150 мм, 5 мкм). В качестве под-

вижной фазы использовалась смесь ацетонитрила 500 ммоль/л и фосфатного буферного раствора, содержащего 10 ммоль/л диэтиламина гидрохлорида (32:68).

В работе [3] предложена методика определения силденафила и его метаболита в плазме крови методом ВЭЖХ с использованием электрохимического детектирования. Колонка Hypersil C8 (4,6 × 150 мм, 5 мкм). В качестве подвижной фазы использовали ацетонитрил, метанол, фосфатный буферный раствор в объемном соотношении 18,5:34,5:47,0 (pH = 7,68; об/об/об). В качестве внутреннего стандарта использовался рокситромицин.

Группой авторов [4] выполнялось определение силденафила на хроматографе Agilent 1100 со спектрофотометриче-